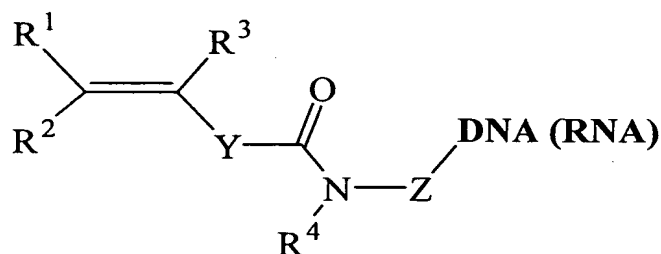


- (21) 99127744/04 (13) A
 (22) Déc. 28, 1999
 (51) 7 C 07 H 21/00, G 01 N 33/50, C 08 F 220/56
 (72) A. D. Mirzabekov, A. Yu. Rubina, S. V. Pan'kov, B. K. Chernov
 (71) V. A. Engel'gardt Institute of Molecular Biology, RAN
 Mailing address for correspondence: 103735, Moscow, Il'inka str. 5/2, OOO
 "Soyuzpatent", A. P. Agureev
 (54) A METHOD FOR IMMOBILIZATION OF OLIGONUCLEOTIDES COMPRISING
 UNSATURATED GROUPS IN POLYMER HYDROGELS ON FORMATION OF
 MICROCHIP

- (57) 1. A method for immobilization of oligonucleotides in polymer hydrogels comprising a copolymerization of modified oligonucleotides with unsaturated monomers on formation of polymer gels, *characterizing in that* a high extent of immobilization is achieved by modification of oligonucleotides with unsaturated groups of general formula (I)



wherein:

R^1, R^2, R^3 are H, alkyl C_1-C_6 , Ph, $PhCH_2-$;

Y is $(p-C_6H_4)_n$ where $n = 0-2$;

R^4 represents H, $(CH_2)_nOH$ where $n = 2-6$;

Z is $(CH_2)_nCH(CH_2OH)CH_2OX$ where $n = 1-6$; or $-(CH_2)_n-OX$ where $n = 2-6$;

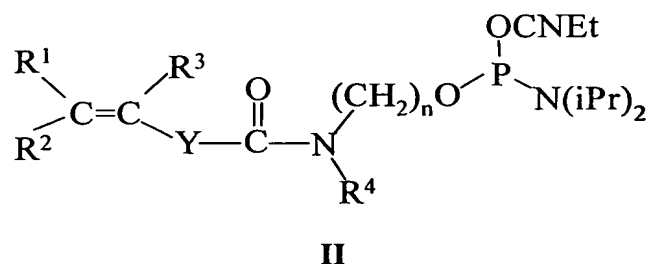
X is a phosphodiester group binding an unsaturated moiety to 5'- and/or 3'-end of the oligonucleotide,

having a high ability to copolymerization with the monomer forming the basis of hydrogel obtained.

2. A method of claim 1, *characterizing in that* polymeric hydrogel is a polyacrylamide gel as obtained by copolymerization of unsaturated acrylamide and bis-acrylamide monomers or any other monomers on their basis.

3. A method of claim 1 *characterizing in that* a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed in automatic conditions.

4. A method of claim 3 *characterizing in that* a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed by using corresponding phosphoramidite of general formula (II):



wherein

R^1, R^2 are H, alkyl $\text{C}_1\text{-C}_6$, Ph, $\text{PhCH}_2\text{-}$, where $n = 2\text{-}6$;

R^3 is alkyl $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R^4 represents H, $(\text{CH}_2)_n\text{-ODMT}$ where $n = 2\text{-}6$;

Y is $(p\text{-C}_6\text{H}_4)_n$ where $n = 0\text{-}2$,

and a bond type of phosphor with said unsaturated group being of P-O.

5. A method of claim 1 characterizing in that a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed in post-automatic conditions.

6. A method of claim 5 characterizing in that a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed by acylation of the amino-linker comprising oligonucleotide with activated ester of unsaturated acid.

7. A method of claim 6 characterizing in that an activated ester of unsaturated acid represents 4-nitrophenyl ester.

8. A method of claims 3 and 5 wherein a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed at 5'-end of oligonucleotide.

9. A method of claims 3 and 5 wherein a modification of oligonucleotides with unsaturated groups is performed at 3'-end of oligonucleotide.

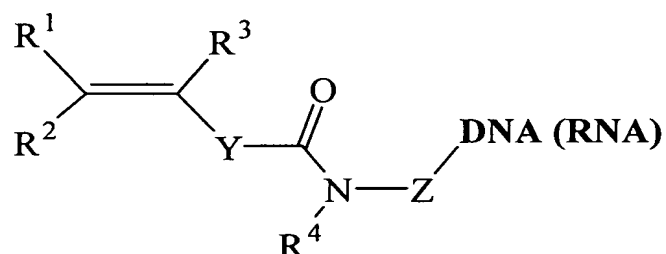
10. A method of claim 1 characterizing in that an immobilization is performed by photocopolymerization under exposure of UV radiation.

11. A method of claim 10 characterizing in that a photo-copolymerization is performed by a droplet method using an application of droplets onto previously modified glass.

12. A method of claim 11 characterizing in that an application of droplets is performed by using a micro syringe.

13. A method of claim 12 characterizing in that a volume of droplets is about $0.2 \mu\text{L}$.

14. A method of claim 11 characterizing in that an application of droplets is carried out using an automatic robot for applying micro droplets.
15. A method of claim 14 characterizing in that a volume of droplets is about 1 nanoL.
16. An oligonucleotide modified with unsaturated groups of general formula (I)



wherein:

R^1, R^2, R^3 are H, alkyl C_1-C_6 , Ph, $PhCH_2-$;

Y is $(p-C_6H_4)_n$ where $n = 0-2$;

R^4 represents H, $(CH_2)_nOH$ where $n = 2-6$;

Z is $(CH_2)_nCH(CH_2OH)CH_2OX$ where $n = 1-6$; or $-(CH_2)_n-OX$ where $n = 2-6$;

X is a phosphodiester group binding an unsaturated moiety to 5'- and/or 3'-end of the oligonucleotide,

17. An oligonucleotide of claim 16 characterizing in that modification with an unsaturated group is performed at 5'-end of oligonucleotide.
18. An oligonucleotide of claim 16 characterizing in that modification with an unsaturated group is performed at 3'-end of oligonucleotide.

BEST AVAILABLE COPY



ИЗОБРЕТЕНИЯ ПОЛЕЗНЫЕ МОДЕЛИ

ИЗДАЕТСЯ С 1924 ГОДА
ВЫХОДИТ ТРИ РАЗА В МЕСЯЦ

(43) Сведения о заявках, помещенные в настоящем бюллетене, считаются опубликованными 10.09.2001

(46) Сведения о патентах на изобретения и свидетельствах на полезные модели, помещенные в настоящем бюллетене, считаются зарегистрированными и опубликованными 10.09.2001

ФОНД ЭКСПЕРТОВ

1.1 СЕН 2001

ФИПС

25 (1 ч.)

2001

ФИПС

МОСКВА

лы III по
их продук
лы III по
- (3-пирол
и 4-(3-пир
бутан.

3.05.1991

(21.05.1991)
(26.11.1991)
и (3-пирол
и 4-(3-пир
бутан.

Р.Л. (III)
Георгий
129010,
25, стр.
ры", ЛС

ЕНИЯ
РИДИНА
ия 5'-де

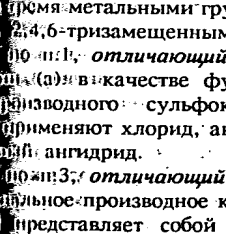
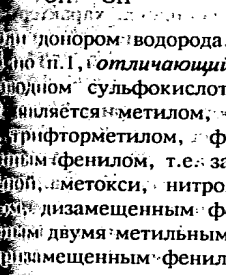
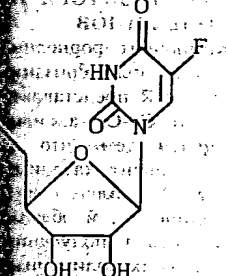
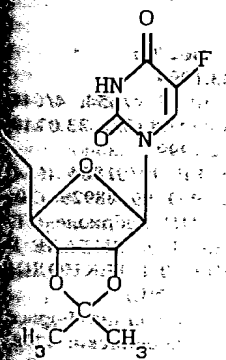
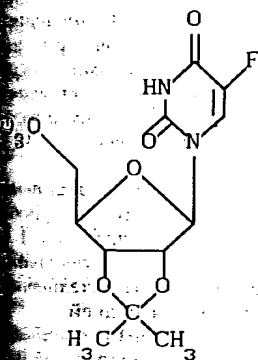
2',3'-O-и
ормулы III

H

изводные

I

алкилы
инной, ме
ильной
олучен
оксипро



сульфонилхлорид, трифторметансульфонилхлорид, бензол-сульфонилхлорид, п-толуолсульфонилхлорид или 2,4,6-триметил-фенилсульфонилхлорид.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что стадии (а), (б) и (с) осуществляют без выделения продуктов, полученных в конце каждой из стадий (а) и (б).

6. Способ по п.1, отличающийся тем, что стадию восстановления (д) осуществляют каталитическим гидрированием.

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что в качестве катализатора используют палладий на угле.

8. Способ по п.6, отличающийся тем, что каталитическое гидрирование осуществляют в присутствии основания.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что основание является вторичным или третичным амином.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что вторичный или третичный амин является триметиламином, триэтиламин, диизопропиламином, N-этилдиизопропиламином, пиридином, диметиламинопиридином, морфолином, N-метилморфолином, 2-пиколином или хинолином.

11. Способ по п.8, отличающийся тем, что основание является неорганическим основанием, предпочтительно бикарбонатом натрия или калия.

12. Способ по п.6, отличающийся тем, что в качестве восстановителя применяют гидрид трибутиллолова.

13. Способ по п.12, отличающийся тем, что восстановление осуществляют в присутствии каталитического количества α, α' -азоизобутиронитрила.

14. Способ по п.6, отличающийся тем, что восстановление осуществляют с использованием в качестве донора водорода циклогексена или циклогексадиена.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что стадию восстановления осуществляют при температуре между 60°C и 90°C.

(21) 99127744/04
(22) 28.12.1999

(51) 7 C 07 H 21/00, G 01 N 33/50, C 08 F 220/56

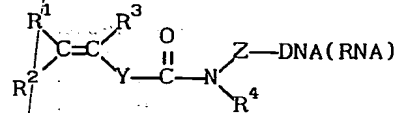
(72) Мирзабеков Андрей Дарьевич, Рубина Алла Юрьевна, Паньков Сергей Васильевич, Чернов Борис Константинович

(71) Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН
Адрес для переписки: 103735, Москва, ул. Ильинка 5/2, ООО "Союзпатент", Агурееву А.П.

(54) СПОСОБ ИММОБИЛИЗАЦИИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ НЕПРЕДЕЛЬНЫЕ ГРУППЫ, В ПОЛИМЕРНЫХ ГИДРОГЕЛЯХ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ МИКРОЧИПА

(57) 1. Способ иммобилизации олигонуклеотидов в полимерных гидрогелях, заключающийся в сополимеризации модифицированных олигонуклеотидов с непредельными мономерами при формировании полимерных тел, отличающийся тем, что высокая степень иммобилизации до-

стигается путем модификации олигонуклеотидов непредельными группами общей формулы [I],



где R^1, R^2, R^3 - H, алкил C_1-C_6 , Ph, $PhCH_2$;

Z - $(CH_2)_nCH(CH_2OH)CH_2OX$, где n = 1-6; или $(CH_2)_n-OX$, где n = 2-6;

X - фосфодиэфирная группа, связывающая непредельный фрагмент с 5'- и/или 3'-концом олигонуклеотида;

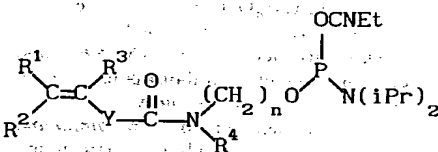
R_4 - H, $(CH_2)_nOH$, где n = 2-6;

Y - $(p-C_6H_4)_n$, где n = 0-2, обладающими высокой способностью к сополимеризации с мономером, составляющим основу получаемого гидрогеля.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что полимерный гидрогель представляет собой полиакриламидный гель, получаемый сополимеризацией непредельных мономеров акриламида и бис-акриламида, или любых других мономеров на их основе.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют в автоматическом режиме.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют с помощью фосфоамидита общей формулы [II]



где R^1, R^2 - H, алкил C_1-C_6 , Ph, $PhCH_2$, где n = 2-6;

R^3 - алкил C_1-C_6 ;

R^4 - H, $(CH_2)_n-ODMT$, где n = 2-6;

Y - $(p-C_6H_4)_n$, где n = 0-2;

с типом связи фосфора с непредельной группой P-O.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют в автоматическом режиме.

6. Способ по п.5, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют путем ацилирования олигонуклеотида, содержащего аминлинк, активированным эфиром непредельной кислоты.

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что активированный эфир непредельной кислоты представляет собой нитрофеноловый эфир.

8. Способ по пп.3 и 5, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют по 5'-концу олигонуклеотида.

9. Способ по пп.3 и 5, отличающийся тем, что модификацию олигонуклеотидов непредельными группами осуществляют по 3'-концу олигонуклеотида.

BEST AVAILABLE COPY

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что иммобилизацию осуществляют путем фотосополимеризации под действием УФ-излучения.

11. Способ по п.10, отличающийся тем, что фотосополимеризацию проводят капельным способом путем нанесения капель на предварительно модифицированное стекло.

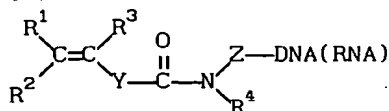
12. Способ по п.11, отличающийся тем, что нанесение капель осуществляют с помощью микрошприца.

13. Способ по п.12, отличающийся тем, что объем капель составляет около 0,2 мкл.

14. Способ по п.11, отличающийся тем, что нанесение капель осуществляют с помощью автоматического робота для нанесения микрокапель.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что объем капель составляет около 1 нл.

16. Олигонуклеотид, модифицированный непредельными группами общей формулы [I]



где R^1, R^2, R^3 - H, алкил C_1-C_6 , Ph, $PhCH_2$;

Z - $(CH_2)_nCH(CH_2OH)CH_2Ox$, где $n = 1-6$; или $(CH_2)_n-Ox$, где $n = 2-6$;

X - фосфодиэфирная группа, связывающая непредельный фрагмент с 5'- и/или 3'-концом олигонуклеотида;

R^4 - H, $(CH_2)_nOH$, где $n = 2-6$;

Y - $(p-C_6H_4)_n$, где $n = 0-2$.

17. Олигонуклеотид по п.16, отличающийся тем, что он модифицирован непредельной группой по 5'-концу.

18. Олигонуклеотид по п.16, отличающийся тем, что он модифицирован непредельной группой по 3'-концу.

добавления или делеции, произведенные в данном пептиде, при том, что данные замены, добавления или делеции приводят к получению пептида, способного нейтрализовать или модулировать образование антимиелинового основного белка.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного компонента пептид с формулой: Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr; включая замены, добавления или делеции, произведенные в данном пептиде, при том, что данные замены, добавления или делеции приводят к получению пептида, способного нейтрализовать или модулировать образование антимиелинового основного белка, в смеси с фармацевтически приемлемым носителем.

3. Способ лечения рассеянного склероза у больного, отличающийся введением данному больному эффективного количества пептида с формулой: Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr; включая замены, добавления или делеции, произведенные в данном пептиде, при том, что данные замены, добавления или делеции приводят к получению пептида, способного нейтрализовать или модулировать образование антимиелинового основного белка, в смеси с фармацевтически приемлемым носителем.

4. Способ лечения рассеянного склероза у больного, отличающийся введением данному больному эффективного количества пептида с формулой:



и его солей, при том, что R_1 и R_2 независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, аминокислотный остаток и полипептидный остаток; при том, что R_1 и R_2 не являются одновременно водородом или гидроксильной группой; включая замены, добавления или делеции, произведенные в данном пептиде, при том, что данные замены, добавления или делеции приводят к получению пептида, который сам по себе или в сочетаниях способен нейтрализовать или модулировать образование антимиелинового основного белка, в смеси с фармацевтически приемлемым носителем; при этом указанный способ предусматривает введение последовательных доз указанного пептида.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является Asp-Pro-Val-, а R_2 - является водородом или гидроксильной группой.

6. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является Pro-Val-, а R_2 - Val.

7. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является Pro-Val-, а R_2 - Val-Thr.

8. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является водородом или гидроксильной группой, а R_2 - Val-Thr-Pro.

9. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является Lys-Ser-His-Gly-Arg-Thr-Gln-Asp-Glu-Asn-Pro-Val, а R_2 - Val-Thr.

10. Способ по п.4, отличающийся тем, что R_1 является Asp-Glu-Asn-Pro-Val-, а R_2 - Val-Thr-Pro-Arg-Thr.

11. Способ по п.4, отличающийся тем, что пептид вводят внутривенно, оболочечно или обоими способами.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что пептид вводят внутривенно, лежащей в пределах $1 - 10$ мл тела.

13. Способ по п.11, отличающийся тем, что пептид вводят внутривенно, в дозе, лежащей в пределах $1 - 10$ мл.

14. Способ по п.11, отличающийся тем, что пептид вводят ежедневно в течение четырех или пяти дней.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что спустя примерно одну неделю первой инъекции вводят дополнительную дозу пептида.

C 08

(21) 99127462/04

(22) 18.03.1999

(51) 7 C 08 F 4/654, 4/647, 10/6

(31) 98200907.8 (32) 23.03.1998

(85) 23.12.1999

(86) РСТ/ЕР 99/01804 (18.03.1999)

(87) РСТ/ВО 99/48929 (30.09.1999)

(72) ГОВОНИ Габриэле (IT), СА

ТИ Марио (IT), ВИТАЛЕ Джанни

(71) МОНТЕЛЛ ТЕКНОЛОДЖИ

ПАНИ Б.В. (NL)

(74) Егорова Галина Борисовна

Адрес для переписки: 129010,

ул. Большая Спасская 25, стр.

"Городисский и Партнеры", Г.Б.

(54) КОМПОНЕНТЫ ФОРПОЛИМЕРНОГО КАТАЛИЗАТОРА ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ОЛЕФИНОВ

(57) 1. Компонент форполимерного катализатора для полимеризации $CH_2=CHR$, где R представляет собой водород или C_1-C_{12} -алкильную группу, отличающийся тем, что он содержит твердый компонент катализатора, являющийся Mg, Ti, галоген и электронодонорное соединение, и обладает способностью приводить к получению полимеров в жестких условиях полимеризации: полимера пропилена, характеризующегося высокой нерастворимостью в ксилоле при $25^\circ C$, превышающей 90%, при этом упомянутый твердый компонент катализатора форполимеризуют с этиленом, что количество этиленового форполимера доходит до 100 г на 1 г твердого компонента катализатора.

2. Компонент катализатора, отличающийся тем, что количество этиленового полимера меньше, чем 1 г твердого компонента катализатора.

3. Компонент катализатора, отличающийся тем, что количество этиленового полимера меньше, чем 5 г твердого компонента катализатора.

4. Компонент катализатора, отличающийся тем, что твердый компонент катализатора содержит соединение титана, имеющее по меньшей мере один Ti-галоген, и электронодонорное соединение.

(21) 99122954/04 (13) A

(22) 03.04.1998

(51) 7 C 07 K 14/47, A 61 K 31/17, A 61 P 9/10

(31) 2,201,841 (32) 04.04.1997 (33) СА

(85) 04.11.1999

(86) РСТ/СА 98/00290 (03.04.1998)

(87) РСТ/ВО 98/45327 (15.10.1998)

(72) УОРРЕН Кеннет Г. (СА), КЭТЦ

Ингрид (СА)

(71) ЗЕ ГОВЕРНОРС ОФ ЗЕ ЮНИ-

ВЕРСИТИ ОФ АЛБЕРТА (СА)

(74) Дементьев Владимир Николаевич

Адрес для переписки: 119034, Москва,

Пречистенский переулок, д.14, строение

1, 4 этаж, "Гоулингз Интернэшнл Инк.",

Дементьев В.Н.

(54) ПЕПТИДНЫЕ ФРАГМЕНТЫ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ИХ ОСНОВЕ И ПРИМЕНЕНИЕ ДАННЫХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

(57) 1. Пептид с формулой: Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr; включая замены,